

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

10 August 2000 (10.08.00)

International application No.:

PCT/JP00/00531

Applicant's or agent's file reference:

F2000-20-PCT

International filing date:

01 February 2000 (01.02.00)

Priority date:

02 February 1999 (02.02.99)

Applicant:

YOSHIKAWA, Toshikazu et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

07 April 2000 (07.04.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

18T

## 特 許 協 力 条 約

P C T

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
〔PCT36条及びPCT規則70〕


REC'D 19 MAY 2000

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-20-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/00531	国際出願日 (日.月.年) 01.02.00	優先日 (日.月.年) 02.02.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl. <sup>7</sup> A61K31/7048, A61P9/10		
出願人(氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。  
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で                      ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
  - ☒ 国際予備審査報告の基礎
  - ☐ 優先権
  - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
  - ☐ 発明の単一性の欠如
  - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
  - ☐ ある種の引用文献
  - ☐ 国際出願の不備
  - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 07.04.00	国際予備審査報告を作成した日 19.04.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 吉住 和之 	4P 9165
電話番号 03-3581-1101 内線 3490		

様式PCT/IPEA/409(表紙)(1998年7月)

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                          |            |         |        |                      |
|--------------------------|------------|---------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 明細書        | 第 _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 明細書        | 第 _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの       |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
|                          | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | 付の書簡と共に提出されたもの       |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 図面         | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 図面         | 第 _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの       |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの       |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-4 有  
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1-4 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-4 有  
請求の範囲 無

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

一般式(1)のクロマノール配糖体を有効成分とする動脈硬化症予防・治療剤は、国際調査報告で列記されたいずれの文献にも記載されておらず、当業者に自明なものでもない。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00531

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl.<sup>7</sup> A61K31/7048, A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K31/7048, A61P9/10, C07H17/065

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP, 611152, A1 (CCI Corporation), 17 August, 1994 (17.08.94) & JP, 7-118287, A & US, 5478812, A	1-4
A, P	Toshihiko Osawa, "Lignin rui no kinousei: tokuni goma Lignin wo chuushin ni", Nippon Yuka Gakkaishi, 1999, Vol.48, No.10, pages 1041-1048	1-4
A	WU YIH-JER, HONG CHUANG-YE, LIN SHING-JONG, WU PAULIN, SHIAO MING-SHI, "Increase of vitamin E content in LDL and reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by a water-soluble antioxidant-rich fraction of Salvia miltiorrhiza", Arterioscler., Thromb., Vasc. Biol., 1998, Vol.18, No.3, p.481-486	1-4
A	EDOSON LUIZ DA SILVA, TOJIRO TSUSHIDA, JUNJI TERAQ, "Inhibition of Mammalian 15-Lipoxygenase-Dependent Lipid Peroxidation in Low-Density Lipoprotein by Quercetin and Quercetin Monoglucosides", Archives of Biochemistry and Biophysics, 1998, Vol.349, No.2, p.313-320	1-4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing  
date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means  
"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
16 February, 2000 (16.02.00)

Date of mailing of the international search report  
29 February, 2000 (29.02.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

P C T

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)  
〔P C T 1 8 条、P C T 規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-20-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(P C T / I S A / 2 2 0 ) 及び下記 5 を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 0 0 / 0 0 5 3 1	国際出願日 (日.月.年) 0 1 . 0 2 . 0 0	優先日 (日.月.年) 0 2 . 0 2 . 9 9
出願人 (氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 ( P C T 1 8 条 ) の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 ( P C T 規則38. 2 ( b ) ) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl. A61K31/7048, A61P9/10

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl. A61K31/7048, A61P9/10, C07H17/065

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)  
REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 611152, A1 (シーシーアイ株式会社) 17. 8月. 1994 (17. 08. 94) & JP, 7-118287, A & US, 5478812, A	1-4
A, P	大沢俊彦, 「リグナン類の機能性: 特にゴマリグナンを中心に」、 日本油化学会誌、1999, 第48巻、第10号、第1041-1 048頁	1-4
A	WU YIH-JER, HONG CHUANG-YE, LIN SHING-JONG, WU PAULIN, SHIAO MIN G-SHI, "Increase of vitamin E content in LDL and reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by a water-solub le antioxidant-rich fraction of Salvia miltiorrhiza", Arterio	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 02. 00

国際調査報告の発送日

29.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

吉住 和之

印

4P

9165

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	<p>scler., Thromb., Vasc. Biol., 1998, Vol. 18, No. 3, p. 481-486</p> <p>EDOSON LUIZ DA SILVA, TOJIRO TSUSHIDA, JUNJI TERA0, "Inhibition of Mammalian 15-Lipoxygenase-Dependent Lipid Peroxidation in Low-Density Lipoprotein by Quercetin and Quercetin Monoglucosides", Archives of Biochemistry and Biophysics, 1998, Vol. 349, No. 2, p. 313-320</p>	1 - 4



E P



P C

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)

〔PCT 18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-20-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/00531	国際出願日 (日.月.年) 01.02.00	優先日 (日.月.年) 02.02.99
出願人 (氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT 18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第        図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl.<sup>7</sup> A61K31/7048, A61P9/10

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>7</sup> A61K31/7048, A61P9/10, C07H17/065

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 611152, A1 (シーシーアイ株式会社) 17. 8月. 1994 (17. 08. 94) & JP, 7-118287, A & US, 5478812, A	1-4
A, P	大沢俊彦, 「リグナン類の機能性: 特にゴマリグナンを中心に」、 日本油化学会誌、1999, 第48巻、第10号、第1041-1 048頁	1-4
A	WU YIH-JER, HONG CHUANG-YE, LIN SHING-JONG, WU PAULIN, SHIAO MIN G-SHI, "Increase of vitamin E content in LDL and reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by a water-solub le antioxidant-rich fraction of Salvia miltiorrhiza", Arterio	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日  
16. 02. 00

国際調査報告の発送日  
29.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

吉住 和之

4P

9165

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	<p>scler., Thromb., Vasc. Biol., 1998, Vol. 18, No. 3, p. 481-486</p> <p>EDOSON LUIZ DA SILVA, TOJIRO TSUSHIDA, JUNJI TERA0, "Inhibition of Mammalian 15-Lipoxygenase-Dependent Lipid Peroxidation in Low-Density Lipoprotein by Quercetin and Quercetin Monoglu cosides", Archives of Biochemistry and Biophysics, 1998, Vol. 349, No. 2, p. 313-320</p>	1 - 4

127  
Translation

PATENT COÖPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference F2000-20-PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/00531	International filing date ( <i>day/month/year</i> ) 01 February 2000 (01.02.00)	Priority date ( <i>day/month/year</i> ) 02 February 1999 (02.02.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/7048, A61P 9/10		
Applicant CCI CORPORATION		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 07 April 2000 (07.04.00)	Date of completion of this report 19 April 2000 (19.04.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**I. Basis of the report****1. With regard to the elements of the international application:\***

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

**2. With regard to the language.** all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

**3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:**

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

**4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:**

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

**5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\***

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00531

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

The preventative and therapeutic agents for arteriosclerosis containing as the active ingredient chromanol glycosides represented by general formula 1 are not described in any of the documents cited in the ISR, nor are they obvious to a party skilled in the art.

特 許 協 力 条 約


PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-20-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/00531	国際出願日 (日.月.年) 01.02.00	優先日 (日.月.年) 02.02.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl <sup>7</sup> A61K31/7048, A61P9/10		
出願人(氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。  
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で                      ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
  - ☒ 国際予備審査報告の基礎
  - ☐ 優先権
  - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
  - ☐ 発明の単一性の欠如
  - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
  - ☐ ある種の引用文献
  - ☐ 国際出願の不備
  - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 07.04.00	国際予備審査報告を作成した日 19.04.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 吉住 和之 	4P 9165
電話番号 03-3581-1101 内線 3490		

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                     |   |       |        |                      |
|-------------------------------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
| 明細書                                 | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 明細書                                 | 第 | _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの       |
|                                     |   |       |        |                      |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの          |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | 付の書簡と共に提出されたもの       |
|                                     |   |       |        |                      |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
| 図面                                  | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 図面                                  | 第 | _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの       |
|                                     |   |       |        |                      |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
| 明細書の配列表の部分                          | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 明細書の配列表の部分                          | 第 | _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの       |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（P.C.T 35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲

1-4

有

請求の範囲

無

進歩性 (I S)

請求の範囲

1-4

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性 (I A)

請求の範囲

1-4

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明 (P.C.T 規則70.7)

一般式 (1) のクロマノール配糖体を有効成分とする動脈硬化症予防・治療剤は、国際調査報告で列記されたいずれの文献にも記載されておらず、当業者に自明なものでもない。

12 T  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference F2000-20-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/00531	International filing date (day/month/year) 01 February 2000 (01.02.00)	Priority date (day/month/year) 02 February 1999 (02.02.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/7048, A61P 9/10		
Applicant CCI CORPORATION		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 07 April 2000 (07.04.00)	Date of completion of this report 19 April 2000 (19.04.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

tional application No.

PCT/JP00/00531

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

tional application No.

PCT/JP00/00531

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

The preventative and therapeutic agents for arteriosclerosis containing as the active ingredient chromanol glycosides represented by general formula 1 are not described in any of the documents cited in the ISR, nor are they obvious to a party skilled in the art.

## PCT REQUEST

F2000-20-PCT

<b>0</b>	<b>For receiving Office use only</b>	
<b>0-1</b>	International Application No.	
<b>0-2</b>	International Filing Date	
<b>0-3</b>	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
<b>0-4</b>	<b>Form - PCT/RO/101 PCT Request</b>	
<b>0-4-1</b>	Prepared using	<b>PCT-EASY Version 2.90 (updated 15.12.1999)</b>
<b>0-5</b>	<b>Petition</b> The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
<b>0-6</b>	<b>Receiving Office (specified by the applicant)</b>	<b>Japanese Patent Office (RO/JP)</b>
<b>0-7</b>	<b>Applicant's or agent's file reference</b>	<b>F2000-20-PCT</b>
<b>I</b>	<b>Title of invention</b>	<b>AGENT FOR PREVENTING AND CURING ARTERIOSCLEROSIS</b>
<b>II</b>	<b>Applicant</b>	
<b>II-1</b>	This person is:	<b>applicant only</b>
<b>II-2</b>	Applicant for	<b>all designated States except US</b>
<b>II-4</b>	Name	<b>CCI CORPORATION</b>
<b>II-5</b>	Address:	<b>12,Shinhazama, Seki-shi, Gifu 501-3923 Japan</b>
<b>II-6</b>	State of nationality	<b>JP</b>
<b>II-7</b>	State of residence	<b>JP</b>
<b>III-1</b>	<b>Applicant and/or inventor</b>	
<b>III-1-1</b>	This person is:	<b>applicant and inventor</b>
<b>III-1-2</b>	Applicant for	<b>all designated States</b>
<b>III-1-4</b>	Name (LAST, First)	<b>YOSHIKAWA, Toshikazu</b>
<b>III-1-5</b>	Address:	<b>1-51, Todouaramaki, Uji-shi, Kyoto 611-0013 Japan</b>
<b>III-1-6</b>	State of nationality	<b>JP</b>
<b>III-1-7</b>	State of residence	<b>JP</b>
<b>III-2</b>	<b>Applicant and/or inventor</b>	
<b>III-2-1</b>	This person is:	<b>applicant and inventor</b>
<b>III-2-2</b>	Applicant for	<b>US only</b>
<b>III-2-4</b>	Name (LAST, First)	<b>MURASE, Hironobu</b>
<b>III-2-5</b>	Address:	<b>2435-178,Nagara, Gifu-shi, Gifu 502-0071 Japan</b>
<b>III-2-6</b>	State of nationality	<b>JP</b>
<b>III-2-7</b>	State of residence	<b>JP</b>

## PCT REQUEST

F2000-20-PCT

<b>III-3</b>	<b>Applicant and/or inventor</b>	
III-3-1	This person is:	<b>applicant and inventor</b>
III-3-2	Applicant for	<b>US only</b>
III-3-4	Name (LAST, First)	<b>YOSHIDA, Norimasa</b>
III-3-5	Address:	<b>76, Shimogamokitazono-cho, Sakyou-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-0831 Japan</b>
III-3-6	State of nationality	<b>JP</b>
III-3-7	State of residence	<b>JP</b>
<b>IV-1</b>	<b>Agent or common representative; or address for correspondence</b> The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	<b>agent</b>
IV-1-1	Name (LAST, First)	<b>HATTA, Mikio</b>
IV-1-2	Address:	<b>Dia Palace Nibancho, 11-9, Nibancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0084 Japan</b>
IV-1-3	Telephone No.	<b>03-3230-4766</b>
IV-1-4	Facsimile No.	<b>03-3263-4668</b>
IV-1-5	e-mail	<b>hatta@ma.kcom.ne.jp</b>
<b>IV-2</b>	<b>Additional agent(s)</b>	<b>additional agent(s) with same address as first named agent</b>
IV-2-1	Name(s)	<b>NOGAMI, Atsushi; NARA, Yasuo; SAITOH, Etsuko</b>
<b>V</b>	<b>Designation of States</b>	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	<b>AP: GH GM KE LS MW SD SL SZ TZ UG ZW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM and any other State which is a Contracting Stat of the Eurasian Patent Convention and of the PCT EP: AT BE CH&amp;LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE and any other Stat which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GW ML MR NE SN TD TG and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT</b>

## PCT REQUEST

F2000-20-PCT

<b>V-2</b>	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	<b>AE AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY CA</b> <b>CH&amp;LI CN CR CU CZ DE DK DM EE ES FI GB</b> <b>GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG</b> <b>KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG</b> <b>MK MN MW MX NO NZ PL PT RO RU SD SE SG</b> <b>SI SK SL TJ TM TR TT TZ UA UG US UZ VN</b> <b>YU ZA ZW</b>	
<b>V-5</b>	<b>Precautionary Designation Statement</b>  In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-6 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.		
<b>V-6</b>	<b>Exclusion(s) from precautionary designations</b>	<b>NONE</b>	
<b>VI-1</b>	<b>Priority claim of earlier national application</b>		
VI-1-1	Filing date	<b>02 February 1999 (02.02.1999)</b>	
VI-1-2	Number	<b>Patent Application 11-025392</b>	
VI-1-3	Country	<b>JP</b>	
<b>VI-2</b>	<b>Priority document request</b>  The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):	<b>VI-1</b>	
<b>VII-1</b>	<b>International Searching Authority Chosen</b>	<b>Japanese Patent Office (JPO) (ISA/JP)</b>	
<b>VIII</b>	<b>Check list</b>	number of sheets	electronic file(s) attached
VIII-1	Request	<b>4</b>	-
VIII-2	Description	<b>29</b>	-
VIII-3	Claims	<b>1</b>	-
VIII-4	Abstract	<b>1</b>	f2000-20-pct.txt
VIII-5	Drawings	<b>0</b>	-
VIII-7	TOTAL	<b>35</b>	

## PCT REQUEST

4/4

F2000-20-PCT

	Accompanying Items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
VIII-8	Fee calculation sheet	✓	-
VIII-9	Separate signed power of attorney	✓	-
VIII-10	Copy of general power of attorney	✓	-
VIII-16	PCT-EASY diskette	-	diskette
VIII-17	Other (specified):	Revenue stamps of transmittal fee for receiving office	-
VIII-17	Other (specified):	Submission of certificate of payment for international fee	-
VIII-17	Other (specified):	Request for certification of priority	-
VIII-18	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
VIII-19	Language of filing of the international application	Japanese	
IX-1	Signature of applicant or agent		
IX-1-1	Name (LAST, First)	HATTA, Mikio	

## FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/JP
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

## FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--



## 特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年02月01日 (01.02.2000) 火曜日 10時56分44秒

F2000-20-PCT

0	受理官庁記入欄	
0-1	国際出願番号.	
0-2	国際出願日	
0-3	(受付印)	
0-4	様式-PCT/RO/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、 0-4-1 右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.90 (updated 15.12.1999)
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (RO/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	F2000-20-PCT
I	発明の名称	動脈硬化症予防および治療剤
II	出願人	
II-1	この欄に記載した者は	出願人である (applicant only)
II-2	右の指定国についての出願人である。	米国を除くすべての指定国 (all designated States except US)
II-4ja	名称	シーシーアイ株式会社
II-4en	Name	CCI CORPORATION
II-5ja	あて名:	501-3923 日本国 岐阜県 関市 新迫間 1 2 番地
II-5en	Address:	12,Shinhazama, Seki-shi, Gifu 501-3923 Japan
II-6	国籍 (国名)	日本国 JP
II-7	住所 (国名)	日本国 JP
III-1	その他の出願人又は発明者	
III-1-1	この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-1-2	右の指定国についての出願人である。	すべての指定国 (all designated States)
III-1-4ja	氏名(姓名)	吉川 敏一
III-1-4en	Name (LAST, First)	YOSHIKAWA, Toshikazu
III-1-5ja	あて名:	611-0013 日本国 京都府 宇治市 菟道荒槇 1 - 5 1
III-1-5en	Address:	1-51,Todouaramaki, Uji-shi, Kyoto 611-0013 Japan
III-1-6	国籍 (国名)	日本国 JP
III-1-7	住所 (国名)	日本国 JP



III-2 III-2-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only)
III-2-2	右の指定国についての出願人である。	
III-2-4ja III-2-4en III-2-5ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	村瀬 博宣 MURASE, Hironobu 502-0071 日本国 岐阜県 岐阜市 長良 2 4 3 5 番地の 1 7 8
III-2-5en	Address:	2435-178, Nagara, Gifu-shi, Gifu 502-0071 Japan
III-2-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-2-7	住所(国名)	日本国 JP
III-3 III-3-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only)
III-3-2	右の指定国についての出願人である。	
III-3-4ja III-3-4en III-3-5ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	吉田 憲正 YOSHIDA, Norimasa 606-0831 日本国 京都府 京都市 左京区下鴨北園町 7 6
III-3-5en	Address:	76, Shimogamokitazono-cho, Sakyou-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-0831 Japan
III-3-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-3-7	住所(国名)	日本国 JP
IV-1 IV-1-1ja IV-1-1en IV-1-2ja	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	代理人 (agent)  八田 幹雄 HATTA, Mikio 102-0084 日本国 東京都 千代田区 二番町 1 1 番地 9 ダイアパレス二番町
IV-1-2en	Address:	Dia Palace Nibancho, 11-9, Nibancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0084 Japan
IV-1-3	電話番号	03-3230-4766
IV-1-4	ファクシミリ番号	03-3263-4668
IV-1-5	電子メール	hatta@ma.kcom.ne.jp
IV-2 IV-2-1ja IV-2-1en	その他の代理人  氏名 Name(s)	筆頭代理人と同じあて名を有する代理人 (additional agent(s) with same address as first named agent) 野上 敦; 奈良 泰男; 齋藤 悦子 NOGAMI, Atsushi; NARA, Yasuo; SAITOH, Etsuko

## 特許協力条約に基づく国際出願願書

F2000-20-PCT

原本 (出願用) - 印刷日時 2000年02月01日 (01.02.2000) 火曜日 10時56分44秒

V	国の指定		
V-1	広域特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	AP: GH GM KE LS MW SD SL SZ TZ UG ZW 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国 EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国 EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国 OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GW ML MR NE SN TD TG 及びアフリカ知的所有権 機構と特許協力条約の締約国である他の国	
V-2	国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	AE AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY CA CH&LI CN CR CU CZ DE DK DM EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX NO NZ PL PT RO RU SD SE SG SI SK SL TJ TM TR TT TZ UA UG US UZ VN YU ZA ZW	
V-5	指定の確認の宣言 出願人は、上記の指定に加えて、規則4.9(b)の規定に基づき、特許協力条約のもとで認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、V-6欄に示した国の指定を除く。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。		
V-6	指定の確認から除かれる国	なし (NONE)	
VI-1	先の国内出願に基づく優先権主張		
VI-1-1	先の出願日	1999年02月02日 (02.02.1999)	
VI-1-2	先の出願番号	特願平11-025392	
VI-1-3	国名	日本国 JP	
VI-2	優先権 証明書送付の請求 上記の先の出願のうち、右記の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁に対して請求している。	VI-1	
VII-1	特定された国際調査機関 (ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)	
VIII	照合欄	用紙の枚数	添付された電子データ
VIII-1	願書	4	-
VIII-2	明細書	29	-
VIII-3	請求の範囲	1	-
VIII-4	要約	1	f2000-20-pct.txt
VIII-5	図面	0	-
VIII-7	合計	35	

## 特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年02月01日 (01.02.2000) 火曜日 10時56分44秒

F2000-20-PCT

	添付書類	添付	添付された電子データ
VIII-8	手数料計算用紙	✓	-
VIII-9	別個の記名押印された委任状	✓	-
VIII-10	包括委任状の写し	✓	-
VIII-16	PCT-EASYディスク	-	フレキシブルディスク
VIII-17	その他	納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面	-
VIII-17	その他	国際事務局の口座への振込を証明する書面	-
VIII-17	その他	優先権 証明願	-
VIII-18	要約書とともに提示する図の番号		
VIII-19	国際出願の使用言語名:	日本語 (Japanese)	
IX-1	提出者の記名押印		
IX-1-1	氏名(姓名)	八田 幹雄	

## 受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	
10-2	図面:	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であってその後期間内に提出されたものの実際の受理の日(訂正日)	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

## 国際事務局記入欄

11-1	記録原本の受理の日	
------	-----------	--

## 明 細 書

## 動脈硬化症予防および治療剤

## 5 技術分野

本発明は、新規な動脈硬化症予防および治療剤に関する。詳しくは、水溶性のクロマノール配糖体を有効成分とする動脈硬化症予防および治療剤に関するものである。

## 10 背景技術

動脈硬化は、動脈壁の改築、硬化、機能低下を示す限局性の動脈病変の総称であり、なかでも血管壁にコレステロールを主とする脂質の沈着をみるアテローム性動脈硬化は臨床的に重要であり、冠状動脈、脳動脈、腎動脈、四肢の動脈のアテローム性硬化は、管腔を狭窄し血栓形成等を伴って、心筋梗塞、脳梗塞、腎梗塞、四肢の壊死を起こす。

アテローム性動脈硬化症の発症、進展には数多くの因子が関与していると考えられているが、最近になって、活性酸素やフリーラジカルによって酸化変性を受けた低比重リポタンパク質（LDL）が重要な役割を果たしていることがわかってきた。すなわち、アテローム性動脈硬化症の初期段階においては、血中の多くの単球が血管内皮細胞に付着し内皮下に進入後マクロファージに分化し、マクロファージのスカベンジャー受容体が酸化LDLを取り込み泡沫細胞化し集積して、初期のアテローム巣を形成するものと考えられる（吉川敏一著「フリーラジカルの医学」株式会社診断と治療社1997年4月25日発行第62～66頁他）。

また、酸化LDLは血管内皮細胞を傷害し、血管の保護機構を破綻させアテローム性動脈硬化症に至る過程を誘導するとも考えられている

(Ross, R: The Pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s: Science, 362, 801-809 (1993) )。実際、*in vivo*における酸化LDLの存在も証明され、過酸化リポタンパク質に対するモノクローナル抗体を用いた検討でも動脈硬化巣内にその局在が証明されている (Steinberg, D., et al.: Beyond cholesterol: Modification of low density lipoprotein that increases aetherogenicity: N. Engl. J. Med., 320: 915-924 (1989) )。

かかる観点から、動脈硬化症に対して抗酸化剤の使用が試みられ、*in vitro*の試験においては、数多くの抗酸化剤についてLDLの酸化抑制効果が確認されている (Sampath Parthesarathy, et al.: Probucol Inhibits Oxidative Modification of Low Density Lipoprotein: J. Clin. Invest., 77: 641-644 (1986) 他)。しかし、動物実験においては、LDL内部に取り込まれる脂溶性タイプの抗酸化剤を過剰にウサギ等に投与することにより大動脈のアテローム性動脈硬化症の病変面積の減少が認められたとの報告があるものの (Cynshi. O., et al.: Antiatherogenic effects of the antioxidant BO-653 in three different animals models. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 95: 10123-10128 (1998) )、LDL中には、抗酸化剤として知られているビタミンE、カロテンおよびユビキノールなどが既に存在していることより、かかる脂溶性の抗酸化剤は、臨床的にどれほど有効なものかは不明である。実際にLDLの酸化は、LDLが血管内皮下に移行しそこで血管内皮細胞、血管平滑筋細胞およびマクロファージによって酸化的修飾を受けることによって生じると考えられており、この酸化変性にはこれらの細胞等から発生する活性酸素が関与していると考えられている (Steinberg, D., et al.: Beyond cholesterol: Modification of low density lipoprotein that increases aetherogenicity. N. Engl. J. Med.,

320: 915-924 (1989) )。つまり、LDLの酸化の大部分はLDL外部で発生した活性酸素によって誘導されることから、LDLの酸化抑制には、LDLと反応する前にこれらの活性酸素を消去すること、およびLDL表面で生じた脂質過酸化反応等を素早く停止させることがより重要であると推測される。これに対し、動物実験において水溶性の抗酸化剤の単独投与により動脈硬化を抑制したとの報告はなく、従来の水溶性の抗酸化剤では生体内において活性酸素からLDLを防御するのに適した場に存在できないと考えられる。

一方、本発明に用いられるクロマノール配糖体は既知の化合物である(特開平7-118287号公報)。該クロマノール配糖体は、代表的なビタミンEである $\alpha$ -トコフェロールのクロマン環の2位のフィチル基をアルコールで置換しさらに糖を結合させて得られるものであり、高い水溶性と優れた抗酸化作用を有する。しかし、該クロマノール配糖体を動脈硬化症発症の予防および治療に利用することは知られていない。

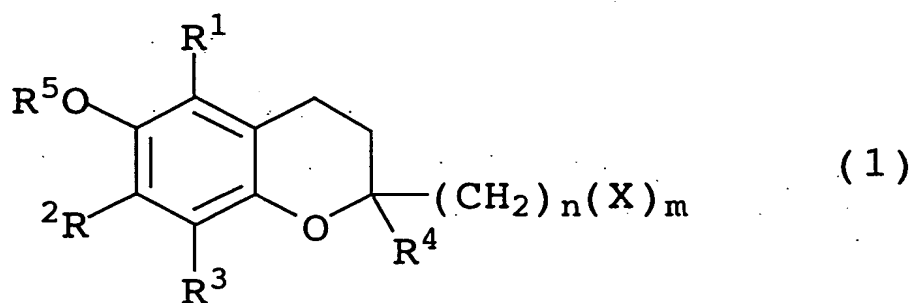
本発明は上記従来技術の有する問題点に鑑みなされたものであり、その目的とするところは、副作用を伴うことなく少用量で効果的に作用し動脈硬化症を予防し、または病態を改善もしくは治癒しうる新規な動脈硬化症予防および治療剤を提供することにある。

本発明の他の目的は、有効成分を高濃度で含有する水性製剤とすることができると新規な動脈硬化症予防および治療剤を提供することにある。

#### 発明の開示

本発明者らは、動脈硬化症の病理について鋭意研究を重ねた結果、前記クロマノール配糖体が、動脈硬化症の病変を劇的に予防および改善することを見出し本発明を完成した。

即ち、本発明は、下記一般式(1)



(ただし、式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  は同一または異なる水素原子または低級アルキル基を表し、 $R^5$  は水素原子、低級アルキル基または低級アシル基を表し、 $X$  は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル基または低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基またはオリゴ糖残基を表し、 $n$  は 0 ～ 6 の整数であり、および  $m$  は 1 ～ 6 の整数である) で表されるクロマノール配糖体を有効成分とする動脈硬化症予防および治療剤である。

本発明はまた、前記クロマノール配糖体は 2 - ( $\alpha$ -D-グルコピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オールである前記動脈硬化症予防および治療剤である。

本発明はさらに、前記動脈硬化症はアテローム性動脈硬化症である前記動脈硬化症予防および治療剤である。

本発明はまた、水性製剤である前記動脈硬化症予防および治療剤である。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明の動脈硬化症予防および治療剤は、前記一般式 (1) で表されるクロマノール配糖体を有効成分とすることを特徴とするものである。

前記一般式 (1) において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$  および  $R^5$  の低級アルキル基としては、炭素原子数が 1 ～ 8、好ましくは 1 ～ 6 の低級アルキル基がよく、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロ

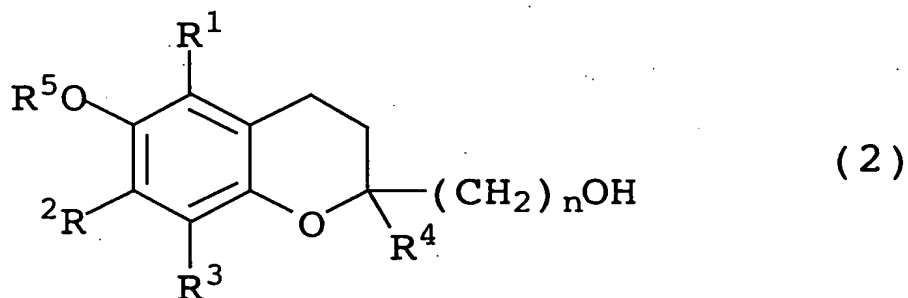


ビル基、ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキ  
 シル基、ヘプチル基、オクチル基等が挙げられる。これらの中では、メ  
 チル基またはエチル基が好ましい。また、 $R^5$  の低級アシル基としては、  
 炭素原子数が1～8、好ましくは1～6の低級アシル基がよく、例えば、  
 5 ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル  
 基、バレリル基、イソバレリル基、ピバロイル基、ヘキサノイル基、ヘ  
 プタノイル基、オクタノイル等が挙げられる。これらの中では、アセチ  
 ル基、プロピオニル基またはブチリル基が好ましい。また、Xの単糖残  
 基としては、グルコース、ガラクトース、フコース、キシロース、マン  
 10 ノース、ラムノース、フルクトース、アラビノース、リキソース、リボ  
 ース、アロース、アルトロース、イドース、タロース、デオキシリボ  
 ース、2-デオキシリボース、キノボース、アベクオース等の糖残基が挙  
 げられる。Xのオリゴ糖残基としては、上記単糖が2～4個結合したも  
 の、例えばマルトース、ラクトース、セロビオース、ラフィノース、キ  
 15 シロビオース、スクロースの糖残基等が挙げられる。これらの中ではグ  
 ルコース、ガラクトース、フコース、キシロース、ラムノース、マンノ  
 ース、フルクトース等の単糖残基が好ましい。また、Xの糖残基中の水  
 酸基の水素原子は低級アルキル基、好ましくは炭素原子数が1～8の低  
 級アルキル基、または低級アシル基、好ましくは炭素原子数が1～10  
 20 の低級アシル基で置換されていてもよい。さらに、nは0～6、好まし  
 くは1～4の整数であり、mは1～6、好ましくは1～3の整数である。  
 一般式(1)で表されるクロマノール配糖体の好ましい例としては、2  
 - ( $\alpha$ -D-グルコピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチ  
 ルクロマン-6-オール、2- ( $\beta$ -D-ガラクトピラノシル) メチル  
 25 -2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2- ( $\beta$ -L  
 -フコピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-

6-オール、2-( $\alpha$ -L-ラムノピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-( $\beta$ -D-キシロピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-( $\beta$ -D-グルコピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-( $\beta$ -D-フルクトフラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-( $\alpha$ -D-マンノピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール等が挙げられる。

本発明に用いられるクロマノール配糖体は、例えば特開平7-118

287号公報に記載の方法により、下記一般式(2)：



(ただし、式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 及び $n$ は前記と同義である)で表される2-置換アルコール及びオリゴ糖類、可溶性澱粉、澱粉またはシクロデキストリンを相当する糖転位作用を触媒する酵素の存在下に反応させ、2-置換アルコールの2位の水酸基に対して特異的に糖の特定の水酸基を結合させることからなる酵素反応によって製造される(酵素法)。

上記反応において原料として用いられる一般式(2)で表される2-置換アルコール(以下、単に「2-置換アルコール」という)は公知の物質であり、例えば、特公平1-43755号公報や特公平1-49135号公報等の開示された方法により得ることができる。また、例えば、一般式(2)中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 及び $R^4$ がメチル基、 $R^5$ が水素原子で

あり、 $n$ が1である2-置換アルコールは、トロロックスを水素化リチウムアルミニウムの存在下においてジエチルエーテル中で加熱還流処理すること等により容易に得ることができる。

上記反応において使用される糖転位作用を触媒する酵素は、当該反応  
5 に用いる糖の種類によって以下のように使い分けることが好ましい。

(1) 2-置換アルコールに $\alpha$ -結合でグルコース残基を結合させる場合：

(a) マルトースからマルトテトラオース位のマルトオリゴ糖に対しては $\alpha$ -グルコシダーゼ ( $\alpha$ -glucosidase, EC 3. 2. 1. 20) を作用させることが望ましい。 $\alpha$ -グルコシダーゼとしては、ほぼ全ての起源由来のものを用いることができ、具体的には、東洋紡績株式会社製のサッカロマイセス属 (*Saccharomyces* sp.) 由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ、オリエンタル酵母工業株式会社製のサッカロマイセス セロビイシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ、天野製薬株式会社製の  
15 アスペルギルス ニガー (*Aspergillus niger*) 由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ、和光純薬工業株式会社製のサッカロマイセス属 (*Saccharomyces* sp.) 由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ、シグマ (SIGMA) 製のベーカー イースト (*Bakers yeast*) 由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ、バチルス属 (*Bacillus*) 由来の $\alpha$ -グルコシダーゼ等が挙げられる。  
20

(b) 可溶性澱粉または澱粉に対しては4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ (4- $\alpha$ -D-glucanotransferase, EC 2. 4. 1. 25) を作用させることが望ましい。

(2) 2-置換アルコールに $\alpha$ -結合でグルコース残基またはマルトオリゴ糖残基を結合させる場合：

マルトオリゴ糖、可溶性澱粉、澱粉またはシクロデキストリン ( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ ) などに対してはシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ (cyclodextrin glucanotransferase, EC 2. 4. 1. 19) を作用させることが望ましい。代表的な例

5 としては、天野製薬株式会社製のバチルス マセランス (*Bacillus macerans*) 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、株式会社林原生物化学研究所製のバチルス ステアロサーモフィラス (*Bacillus stearothermophilus*) 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、その他に

10 はバチルス メガテリウム (*Bacillus megaterium*)、バチルス サーキュランス ATCC 9995 (*Bacillus circulans* ATCC 9995) 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼなどが挙げられる。

(3) 2-置換アルコールに  $\beta$ -結合でグルコース残基を結合させる場合：

15

(a) セロビオース、カードランまたはラミナランなどの  $\beta$ -結合よりなるオリゴ糖に対しては  $\beta$ -グルコシダーゼ ( $\beta$ -glucosidase, EC 3. 2. 1. 21) を作用させることが望ましい。

(b) リン酸存在下のセロビオースに対してはセロビオース ホスホリラーゼ (cellobiose phosphorylase, EC 2. 4. 1. 20) を作用させることが望ましい。

20

(4) 2-置換アルコールに  $\alpha$ -結合でガラクトース残基を結合させる場合：

(a) メリビオースまたはラフィノースなどに対しては  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ ( $\alpha$ -galactosidase, EC 3. 2. 1. 22) を

25

作用させることが望ましい。

(5) 2-置換アルコールに $\beta$ -結合でガラクトース残基を結合させる場合：

(a) ラクトースなどに対しては $\beta$ -ガラクトシダーゼ ( $\beta$ -galactosidase, EC 3. 2. 1. 23) を作用させることが望ましい。  
5

(b) アラビノガラクタンなどに対してはエンド-1, 4- $\beta$ -ガラクタナーゼ (Endo-1, 4- $\beta$ -galactanase, EC 3. 2. 1. 89) を作用させることが望ましい。

(6) 2-置換アルコールに $\beta$ -結合でフラクトース残基を結合させる場合：  
10

(a) ショ糖、ラフィノースまたはメリビオースなどに対してはレバンシュークラーゼ (levansucrase, EC 2. 4. 1. 10) を作用させることが望ましい。

(b) ショ糖に対しては $\beta$ -フルクトフラノシダーゼ ( $\beta$ -fructofuranosidase, EC 3. 2. 1. 26) を作用させることが望ましい。  
15

(c) イヌリンなどに対してはイヌリンフルクトトランスフェラーゼ (inulin fructotransferase, EC 2. 4. 1. 93) を作用させることが望ましい。

20 上記反応における反応条件は、使用するクロマノール配糖体や酵素の種類によって異なるが、例えば、一般式 (1) 中のmが1であるクロマノール配糖体を $\alpha$ -グルコシダーゼを用いて合成する場合には、2-置換アルコールを糖溶液に溶解させることが望ましい。そのためには有機溶媒の添加が望ましく、例えば、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール、エタノール、アセトン、及びアセトニ  
25 トリルなどが挙げられ、 $\alpha$ -グルコシダーゼの転移活性を高める点を考

慮すると、ジメチルスルホキシドやN, N-ジメチルホルムアミドが好ましく使用される。有機溶媒の添加濃度は、1～50（体積／体積）％であり、反応効率を考えると5～35（体積／体積）％であることが好ましい。

- 5      2-置換アルコールの濃度は、反応液中において飽和濃度若しくはそれに近い濃度にすることが望ましい。用いる糖の種類はマルトースからマルトテトラオース位の低分子のものが良く、好ましくはマルトースである。糖の濃度は1～70（質量／体積）％、好ましくは30～60（質量／体積）％である。pHは4.5～7.5、好ましくは5.0～
- 10    6.5である。反応温度は10～70℃、好ましくは30～60℃である。反応時間は1～40時間、好ましくは2～24時間である。但し、これらの条件は使用する酵素量等により影響をうけることはいうまでもない。反応終了後、反応液をXAD（オルガノ株式会社）を担体として用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより、目的とするク
- 15    ロマノール配糖体が高純度で得られる。

- また、例えば、一般式（1）中のmが1であるクロマノール配糖体をシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼを用いて合成する場合の反応条件としては、2-置換アルコールを糖溶液に溶解させることが望ましい。そのためには有機溶媒の添加が望ましく、ジメチルスルホキ
- 20    シド、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール、エタノール、アセトン及びアセトニトリルなどが挙げられる。添加する有機溶媒の濃度は1～50（体積／体積）％、好ましくは反応効率を考えると5～35（体積／体積）％である。2-置換アルコールの濃度は反応液中において、飽和濃度もしくはそれに近い高い濃度にすることが望ましい。

- 25    上記反応において用いられる糖の種類としては、マルトトリオース以上の重合度を持つマルトオリゴ糖、可溶性澱粉、澱粉およびシクロデキ

ストリン ( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ ) などが好ましく挙げられる。糖の濃度は 1 ~ 70 (質量/体積) %、好ましくは 5 ~ 50 (質量/体積) % である。pH は 4.5 ~ 8.5、好ましくは 5.0 ~ 7.5 である。反応温度は 10 ~ 70 °C、好ましくは 30 ~ 60 °C である。反応時間は 1 ~ 60 時間、  
5 好ましくは 2 ~ 50 時間である。但し、これらの条件は使用する酵素量により影響を受ける。このような反応により得られたクロマノール配糖体は m の数が 1 から 8 位の混合物となる。そこで、この混合物をグルコ  
アミラーゼ (EC 3.2.1.3) を用いて処理することによって、一  
般式 (1) 中の m が 1 であるクロマノール配糖体だけを得ることができ  
10 る。この際の反応温度は 20 ~ 70 °C、好ましくは 30 ~ 60 °C であり、  
反応時間は 0.1 ~ 40 時間、好ましくは 1 ~ 24 時間である。但し、  
これらの条件は使用する酵素の量により影響を受ける。次に、上記グル  
コアミラーゼ処理後の液を、XAD (オルガノ株式会社) を担体として  
用いたカラムクロマトグラフィー処理することにより、一般式 (1) 中  
15 の m が 1 であるクロマノール配糖体が高純度で得られる。

一般式 (1) 中の m が 2 であるクロマノール配糖体を得る場合には、  
上記と同様の条件下で、シクロデキストリングルカノトランスフェラー  
ゼによって得られる一般式 (1) における m が 1 から 8 位の混合物の形  
態を有するクロマノール配糖体に  $\beta$ -アミラーゼ (EC 3.2.1.  
20 2) を作用させることにより、一般式 (1) における m が 1 または 2 で  
あるクロマノール配糖体のみが得られる。この時の反応温度は 20 ~ 7  
0 °C、好ましくは 30 ~ 60 °C であり、反応時間は 0.1 ~ 40 時間、  
好ましくは 1 ~ 24 時間である。但し、これらの条件は使用する酵素量  
により影響を受ける。 $\beta$ -アミラーゼ処理後の液は、XAD (オルガノ  
25 株式会社) を担体として用いたカラムクロマトグラフィー処理により、  
一般式 (1) における m が 2 であるクロマノール配糖体が高純度で得ら

れると同時に、一般式（１）における $m$ が１であるクロマノール配糖体も得られる。

一般式（１）における $m$ が３以上であるクロマノール配糖体を得る場合には、上記と同様の条件下で、シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼによって得られる一般式（１）における $m$ が１から８位の混合物の形態を有するクロマノール配糖体を、HPLCを用いた分取クロマトグラフィーなどで処理することにより、高純度のクロマノール配糖体が各 $m$ 毎に得ることができる。

上記実施態様では２－置換アルコールにグルコース残基やマルトオリゴ糖残基を糖残基として結合させる場合の態様を記載したが、ガラクトース残基、 $\beta$ -グルコース残基、マンノース残基、フルクトース残基等を糖残基として２－置換アルコールに結合させることによる態様も本発明では好ましく使用できる。このような態様においては、上記糖転位作用を触媒する酵素の項において説明した適切な酵素をそれぞれ使用する以外は上記実施態様と同様の操作を行うことによって、目的とするクロマノール配糖体が高純度で得られる（特開平９－２４９６８８号公報、特願平９－１７６１７４号）。

一方、本発明に用いられるクロマノール配糖体は、特願平１０－７５５９９号公報に記載の方法により、前記２－置換アルコールの６位の水酸基を保護基で保護したもの（以下「糖受容体」という）とアノマー位に脱離基を導入し他の水酸基を保護基で保護した糖の誘導体（以下、「糖供与体」という）とを縮合反応させることによって製造できる（有機合成法）。

上記反応において使用される糖受容体の６位の水酸基を保護する保護基としては、アセチル基、ベンゾイル基、ヒバロイル基、クロロアセチル基、レプリノイル基、ベンジル基、 $p$ -メトキシベンジル基、アリル



基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、トリメチルシリル基およびトリチル基等が挙げられ、特にアセチル基およびベンゾイル基が好ましい。

上記反応において使用される糖供与体のアノマー位に導入される脱離基としては、塩素、臭素やフッ素等のハロゲン原子、チオメチル基、チオエチル基やチオフェニル基等の硫黄化合物およびトリクロロアセトイミド基などが挙げられ、特に臭素、塩素、チオメチル基、チオエチル基、チオフェニル基およびトリクロロアセトイミド基が好ましい。また、アノマー位以外の水酸基を保護する保護基としては、アセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、クロロアセチル基及びレプリノイル基等のアシル系保護基、およびベンジル基、*p*-メトキシベンジル基、アリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、トリメチルシリル基及びトリチル基等のエーテル系保護基が挙げられ、中でもアシル系保護基、特にアセチル基が好ましい。

これらの糖供与体は、周知の方法により糖の全ての水酸基へ保護基を導入し、次いでアノマー位を脱離基に置換することにより容易に調製することができる。

上記糖受容体と糖供与体の縮合反応について示せば、まず、糖受容体と糖供与体を非極性溶媒に溶解する。糖受容体と糖供与体の仕込量は、糖受容体に対する糖供与体のモル比が1.0～1.5、好ましくは1.1～1.3がよい。非極性溶媒としては、塩化メチレン、ベンゼン等が挙げられる。

次に、無水条件下で活性化剤の存在下で糖供与体及び糖受容体の縮合反応を行う。活性化剤としては、三フッ化ホウ酸・エーテル錯体、過塩素酸銀、トリフルオロメタンスルホン酸銀、臭化水銀、シアン化水銀、*N*-ヨードコハク酸イミド・トリフルオロメタンスルホン酸、ジメチル

メチルチオスルホニウムトリフラート、p-トルエンスルホン酸等が挙げられ、特に、臭素を糖誘導体の脱離基として使用した場合には過塩素酸銀等の重金属塩を使用することが好ましい。反応温度は5～30℃、好ましくは10～25℃がよく、反応時間は12～48時間、好ましくは20～30時間がよい。

次いで得られた反応物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー等で精製し、保護基を水酸化ナトリウムおよびメタノール性塩酸等で脱保護することにより、2-( $\beta$ -L-フコピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-( $\alpha$ -L-ラムノピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-( $\beta$ -D-キシロピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール等を得ることができる(特願平10-75599号)。

上記酵素法または有機合成法により得られたクロマノール配糖体は、一般的に、極めて高い水溶性(約100g/100ml)を有し、かつ油溶性にも富む(オクタノール/水系分配係数>3)両親媒性分子である。いいかえると、本発明によるクロマノール配糖体は、高い脂質親和性を備えた水溶性ビタミンEであるといえることができる。したがって、本発明によるクロマノール配糖体は、従来の水に不溶性あるいは貧溶性のビタミンE誘導体とは異なり、水に溶解して使用しても高い脂質親和性を保つので、細胞膜を透過しさらに細胞内にも入ることができ、生体内の抗酸化防御系を補強し、動脈硬化症の患部における活性酸素およびフリーラジカルを効果的に抑制、調節して動脈硬化症を予防し、または動脈硬化症の病態を飛躍的に改善する。また、上記反応により得られたクロマノール配糖体は、熱安定性およびpH安定性に関してもトコフェロール、トロロックスまたは2-置換アルコールに比べて著しく向上す

るものである。

本発明の動脈硬化症の予防および治療剤は、前記クロマノール配糖体を製薬上許容される担体と配合したまたは製薬上許容される溶剤に溶解もしくは懸濁した組成物として、経口的または非経口的に患者に投与できる。

本剤を経口投与用とする場合には、前記クロマノール配糖体を適当な添加剤、例えば、乳糖、ショ糖、マンニット、トウモロコシデンプン、合成もしくは天然ガム、結晶セルロース等の賦形剤、デンプン、セルロース誘導体、アラビアゴム、ゼラチン、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、デンプン、コーンスターチ、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム等の滑沢剤、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸ナトリウム等の充填剤または希釈剤等と適宜混合して、錠剤、散剤（粉末）、丸剤、および顆粒剤等の固型製剤にすることができる。

また、硬質または軟質のゼラチンカプセル等を用いてカプセル剤としてもよい。これらの固型製剤には、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートスクシネート、セルロースアセテートフタレート、メタアクリレートコポリマー等の被覆用基剤を用いて腸溶性被覆を施してもよい。さらに、前記クロマノール配糖体を、精製水等の一般的に用いられる不活性希釈剤に溶解して、必要に応じて、この溶液に浸潤剤、乳化剤、分散助剤、界面活性剤、甘味料、フレーバー、芳香物質等を適宜添加することにより、シロップ剤、エリキシル剤等の液状製剤とすることもできる。

また、本発明の動脈硬化症の予防および治療剤を非経口投与用とする場合には、前記クロマノール配糖体を精製水、リン酸緩衝液等の適当な

緩衝液、生理的食塩水、リンガー溶液、ロック溶液等の生理的塩類溶液、エタノール、グリセリン及び慣用される界面活性剤等と適当に組み合わせた滅菌された水溶液、非水溶液、懸濁液、リボソームまたはエマルジョンとして、好ましくは注射用注入用または噴霧用滅菌水溶液として、

5 静脈内、皮下、筋肉内、腹腔内、腸内、気管支内等に投与される。この際、液状製剤は、生理学的なpH、好ましくは6～8の範囲内のpHを有することが好ましい。さらに、本発明の動脈硬化症の予防および治療剤は、ペレットによる埋め込み、または坐薬用基剤を用いた坐薬として投与されることも可能である。

10 上述したうち、好ましい製剤や投与形態等は、担当の医師によって選択される。

本発明の動脈硬化症の予防および治療剤に含まれるクロマノール配糖体の濃度は、投与形態、疾病の種類や重篤度や目的とする投与量などによって様々であるが、一般的には、原料の全質量に対して0.1～10

15 0質量%、好ましくは1～90質量%である。特に、本発明の製剤が経口投与される場合には、原料の全質量に対して1～100質量%、好ましくは5～90質量%であり、非経口投与される場合には、原料の全体積に対して0.1～90体積%、好ましくは1～80体積%であることが好ましい。この際、クロマノール配糖体の濃度が前記上限値を超えると過剰な投与量に見合った病態改善効果が得られず、前記下限値未満であると病態改善効果が十分に期待できずいずれも好ましくない。

20

本発明の動脈硬化症の予防および治療剤の上記投与量は、患者の年齢、体重及び症状、目的とする投与形態や方法、治療効果、および処置期間等によって異なり、正確な量は医師により決定されるものであるが、通

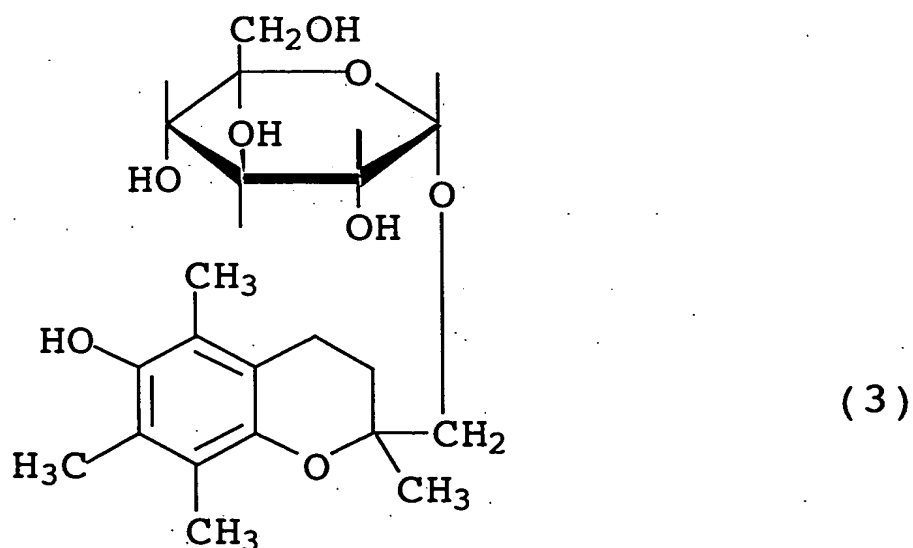
25 常、本剤が経口投与される場合には、クロマノール配糖体の投与量換算で、0.1～10000mg/kg体重/日の投与量の範囲であり、1

日1～3回に分けて投与される。この際、1日当たりの経口投与量が多い場合には、1回に複数個の錠剤等の製剤を投与してもよい。また、本発明の動脈硬化症の予防および治療剤を非経口投与する場合には、クロマノール配糖体の投与量換算で、0.01～1000mg/kg体重/

5 日の投与量になるように1日1～3回に分けて投与される。

次に本発明の動脈硬化予防および治療剤の薬理効果を、高コレステロール負荷ウサギおよび家族性高コレステロール血症のモデルであるWHHL (Watanabe heritable hyperlipidemic) ウサギを用いた薬理試験によりさらに詳細に説明する。なお、  
10 データは全て平均±標準誤差 (SE) で表し、群間における有意差検定はStudentのt-検定により行った。また、危険率は $p < 0.05$ を有意差ありとした。

クロマノール配糖体として、特開平7-118287号公報の実施例1に記載の方法で製造した下記式(3)で示される2-( $\alpha$ -D-グルコピラノシル)メチル-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-6-オール (TMG) を用いた。  
15



コレステロール負荷ウサギモデルによる病変抑制効果

### 1. 使用動物および飼育条件

試験には、入荷時の週齢が7週齢で雌および雄のNew Zealand White (NZW) 系ウサギ (SPF: 北山ラベルズ株式会社) を検疫および2週間の馴化飼育し、一般状態の観察を行い異常がなかったことを確認した後に使用した。投与開始時 (9週齢) の体重範囲は雄が1.8~2.2 kg、雌が1.6~2.0 kgであった。動物は実験期間を通じて、温度20~26℃、相対湿度40~70%、換気回数10~20回/時間、照明時間12時間 (7:00~19:00) の範囲内に設定したクリーン飼育室内のステンレス製ラックに設置されたアルミ製ハンガーゲージに一羽ずつ収容して飼育した。飼料には放射線滅菌された市販固形飼料 (1%コレステロール含有RC4; オリエンタル酵母株式会社) を使用し、飲料水は水道水を自動給水装置により摂取させた。

### 2. 投与量の設定および投与方法

TMGの投与量は800 mg/羽/日とした。TMGは特級エタノールに溶解後、1%コレステロール含有飼料に噴霧し風乾させた。飼料100 g当たり800 mgのTMGが含有されるように混餌飼料を調製した。この混餌飼料を1羽当たり100 g/日として12週間毎朝ウサギに与えることで、TMGを経口摂取させた。コントロール群の飼料はエタノールのみを1%コレステロール含有飼料に噴霧し風乾させたものを1羽当たり100 g/日として12週間毎朝ウサギに与えた。

### 3. 群構成および動物数

コントロール群およびTMG投与群を設け、コントロール群は雄雌3羽ずつで合計6羽とし、TMG投与群は雄雌4羽ずつで合計8羽とした。これらの動物は、出来る限り同腹の仔が同じ群にならないように考慮し、馴化期間終了時の体重および血清の総コレステロール値から、各群の平

均体重および総コレステロールの平均値が出来る限り等しくなるようにランダムに割り当てた。

#### 4. 血液生化学的検査および体重測定

- 5 投与開始前、投与4、8週および投与最終日（12週目）に12時間絶食させたウサギの心臓または耳介動脈より血液約6mlを採取し、遠心分離した血清について表1に示す項目をAutomatic analyzer（736-20、日立株式会社）で測定した。また、体重は投与期間中1週間に1回の割合で測定した。結果を表2に示す。

10

表1

検 査 項 目	測 定 法
トランスアミナーゼ (GOT, GPT)	J S C C 準拠処方
アルカリフォスファターゼ (ALP)	p-ニトロフェニルリン酸基質法
乳酸脱水素酵素 (LDH)	Wroblewski-La Due 法
コリンエステラーゼ (ChE)	ヨウ化ブチルチオコリン基質法
アルブミン (ALB)	B C G 法
総コレステロール (T-CHO)	CHOER・CHOOD・EMSE 法
トリグリセライド (TG)	GK・G-3-POD・EMSE 法
リン脂質 (PL)	コリンオキシダーゼ-HSDA 法

表 2

	コントロール群		TMG投与群	
	投与前	12週目	投与前	12週目
体重 (kg)	1.92±0.08	3.00±0.07	1.94±0.03	2.89±0.11
GOT(mU/ml)	20.8± 1.7	32.5± 3.9	20.4± 3.1	19.7±2.2*
GPT(mU/ml)	38.3± 6.1	64.8± 8.3	39.5±10.5	72.9± 9.1
ALP(mU/ml)	350± 36	186± 16	297± 18	174± 15
LDH(mU/ml)	153± 15	318± 99	132± 16	147± 31
ChE(U/ml)	0.15±0.05	0.17±0.06	0.33±0.05	0.35±0.06
ALB(g/dl)	2.3±0.1	2.2±0.1	2.2±0.1	2.3±0.1
T-CHO(mg/dl)	49± 5	3015± 432	52± 5	2628± 148
TG(mg/dl)	79± 8	319± 87	64± 9	250± 76
PL(mg/dl)	93± 6	869±103	94± 7	851± 42

\*  $p < 0.05$  (コントロール群と比較)

## 5. リポタンパク分析

- 5 投与開始前、投与6、12週目に12時間絶食させたウサギの心臓または耳介動脈より血液約10mlを採取し、遠心分離した血清について Beckman L-70K (ローター; Beckman 70.1Ti) を用い Hatch および Lees の方法による超遠心分離法 (Hatch, F. T., and Lees, R. S. (1968) Adva



n. Lipid Res. 6, 1-68) により、低比重リポタンパク (1.006 < d < 1.063) を分離し、LDL画分のコレステロール量をコレステロールオキシダーゼ・DASO法により、HDL-コレステロール量は血清よりリタングステン酸・マグネシウム塩沈殿法により  
5 測定した。また、TMG量をHPLC法により測定した。結果を表3に示す。

表3

		LDL-CHO (mg/dl)	HDL-CHO (mg/dl)	LDL-TMG (μg/dl)
コントロール 群	投与前	17 ± 3	21 ± 2	0
	12週 目	630 ± 83	39 ± 7	0
TMG 投与群	投与前	18 ± 3	22 ± 2	検出できず
	12週 目	620 ± 34	33 ± 5	検出できず

## 6. 大動脈病変評価

10 12週目、ネンブタール30mg/kgの腹腔内投与による麻酔下において正中開腹し、心臓起始部から腸骨動脈分岐部までの大動脈を1標品として摘出し、長軸方向に切開し、板にピンでとめて中性ホルマリンで  
15 固定した。そして、ズダン染色を行い全大動脈面積中の脂質沈着の占める面積 (surface involvement (%)) を画像処理ソフト (NIH Image Freeware) を用いて求めた。結果を表4に示す。

表 4

	Surface involvement(%)
コントロール群	79.7 ± 3.2
TMG投与群	50.2 ± 5.7**

\*\*  $p < 0.01$  (コントロール群と比較)

コントロール群においては肝障害発現の指標であるGOTの上昇が認められたが、TMG投与群においてはその抑制を有意に抑制しており肝障害抑制効果が認められた。その他、血液生化学的検査においてTMG投与群において異常は認められなかった。TMGには動脈硬化および虚血性心疾患と正の相関がある血清脂質（T-CHO、TG、PL、LDL-CHO）を低下させる作用は認められず、また、LDL中にその存在が認められないもののアテローム性動脈硬化症の発症を有意に抑制できることが明らかとなった。また、動脈硬化および虚血性心疾患と負の相関があることが知られているHDL-コレステロールを低下させる作用は認められなかった。

#### WHHLウサギモデルによる病変抑制効果

##### 15 1. 使用動物および飼育条件

試験には、入荷時の週齢が8週齢で雌および雄のWHHL系ウサギ（SPF：北山ラベルズ株式会社）を検疫および馴化飼育し、一般状態の観察を行い異常が無かったことを確認した後に使用した。投与開始時（9週齢）の体重範囲は雄が1.5～1.9kg、雌が1.4～1.8kgであった。動物は実験期間を通じて、温度20～26℃、相対湿度40～70%、換気回数10～20回/時間、照明時間12時間（7：

00～19:00)の範囲内に設定したクリーン飼育室内のステンレス製ラックに設置されたアルミ製ハンガーゲージに一羽ずつ収容して飼育した。飼料には放射線滅菌された市販固形飼料(RC4;オリエンタル酵母株式会社)を使用し、飲料水は水道水を自動給水装置により摂取させた。

## 2. 投与量の設定および投与方法

TMGの投与量は800mg/羽/日とした。TMGは特級エタノールに溶解後、飼料に噴霧し風乾させた。飼料100g当たり800mgのTMGが含有されるように混餌飼料を調製した。この混餌飼料を1羽当たり100g/日として27週間毎朝ウサギに与えることで、TMGを経口摂取させた。コントロール群の飼料はエタノールのみを飼料に噴霧し風乾させたものを1羽当たり100g/日として27週間毎朝ウサギに与えた。

## 3. 群構成および動物数

コントロール群およびTMG投与群を設け、各群雄雌3羽ずつで合計12羽のウサギを使用した。これらの動物は、出来る限り同腹の仔が同じ群にならないように考慮し、馴化期間終了時の体重および血清の総コレステロール値から、各群の平均体重および総コレステロールの平均値が出来る限り等しくなるようにランダムに割り当てた。

## 4. 血液生化学的検査および体重測定

投与開始前、投与4、8、16週および投与最終日(27週目)に12時間絶食させたウサギの心臓または耳介動脈より血液約6mlを採取し、遠心分離した血清について表5に示す項目をAutomatic analyzer(736-20、日立株式会社)で測定した。また、体重は投与期間中1週間に1回の割合で測定した。結果を表6に示す。

表5

検 査 項 目	測 定 法
トランスアミナーゼ (GOT, GPT)	J S C C 準拠処方
アルカリフォスファターゼ (ALP)	p-ニトロフェニルリン酸基質法
乳酸脱水素酵素 (LDH)	Wroblewski-La Due 法
コリンエステラーゼ (ChE)	ヨウ化ブチルチオコリン基質法
アルブミン (ALB)	B C G 法
総コレステロール (T-CHO)	CHOER・CHOOD・EMSE 法
トリグリセライド (TG)	GK・G-3-POD・EMSE 法
リン脂質 (PL)	コリンオキシダーゼ-HSDA 法

表 6

	コントロール群		TMG投与群	
	投与前	12週目	投与前	12週目
体重 (kg)	1.57±0.04	2.92±0.09	2.95±0.07	2.89±0.11
GOT(mU/ml)	11.5± 2.0	23.7± 4.5	20.5± 4.2	26.0±11.1
GPT(mU/ml)	27.0± 3.0	49.3± 9.6	30.3± 2.6	59.7±12.3
ALP(mU/ml)	314± 31	84± 6	292± 11	87± 5
LDH(mU/ml)	96±10	116± 27	133± 19	97± 4
ChE(U/ml)	0.16±0.05	0.17±0.05	0.17±0.06	0.19±0.05
ALB(g/dl)	2.2±0.1	2.5±0.1	2.2±0.1	2.4±0.1
T-CHO(mg/dl)	877± 53	848± 39	888± 46	934± 49
TG(mg/dl)	254± 34	166± 17	219± 24	169± 23
PL(mg/dl)	464± 18	455± 18	472± 23	459± 52

\*  $p < 0.05$  (コントロール群と比較)

## 5. リボタンパク分析

- 5 投与開始前、投与12、26週目に12時間絶食させたウサギの心臓または耳介動脈より血液約10mlを採取し、遠心分離した血清についてBeckman L-70K (ローター; Beckman 70.1Ti) を用いHatchおよびLeesの方法による超遠心分離法 (Hatch, F. T., and Lees, R. S. (1968) Adva

n. Lipid Res. 6, 1-68) により、低比重リポタンパク ( $1.006 < d < 1.063$ ) を分離し、LDL 画分のコレステロール量をコレステロールオキシダーゼ・DASO 法により、HDL-コレステロール量は血清よりリタングステン酸・マグネシウム塩沈殿法により測定した。また、TMG 量を HPLC 法により測定した。結果を表 7 に示す。

表 7

		LDL-CHO (mg/dl)	HDL-CHO (mg/dl)	LDL-TMG ( $\mu$ g/dl)
コントロール群	投与前	539 $\pm$ 29	6 $\pm$ 1	0
	26 週目	723 $\pm$ 33	5 $\pm$ 1	0
TMG 投与群	投与前	573 $\pm$ 35	6 $\pm$ 1	検出できず
	26 週目	746 $\pm$ 29	5 $\pm$ 1	検出できず

## 6. 大動脈病変評価

27 週目、ネンブタール 30 mg/kg の腹腔内投与による麻酔下において正中開腹し、心臓起始部から腸骨動脈分岐部までの大動脈を 1 標品として摘出し、長軸方向に切開し、板にピンでとめて中性ホルマリンで固定した。そして、ズダン染色を行い全大動脈面積中の脂質沈着の占める面積 (surface involvement (%)) を画像処理ソフト (NIH Image Freeware) を用いて求めた。結果を表 8 に示す。

表 8

	Surface involvement(%)
コントロール群	6.4. 6 ± 3. 9
TMG投与群	52. 4 ± 4. 7 *

\*  $p < 0.05$  (コントロール群と比較)

- 血液生化学的検査においてTMG投与群において異常は認められなかった。TMGには動脈硬化および虚血性心疾患と正の相関がある血清脂質(T-CHO、TG、PL、LDL-CHO)を低下させる作用は認められず、また、LDL中にその存在が認められないもののアテローム性動脈硬化症の発症を有意に抑制できることが明らかとなった。また、動脈硬化および虚血性心疾患と負の相関があることが知られているHDL-コレステロールを低下させる作用は認められなかった。

#### 急性毒性試験

- 本発明の動脈硬化症予防および治療剤について急性毒性試験を行い、その安全性を確認した。4～5週令のICR系マウスを1群3匹として用い、クロマノール配糖体として上記と同じTMGを5%アラビアゴム液に懸濁した後、TMG換算で500mg/kgを経口投与して1週間観察した。この際、対照群として5%アラビアゴム液を0.3ml経口投与した。その結果、いずれの投与群においてもマウスの死亡例は認められなかった。

#### 製剤例 1

- TMG100g、乳糖800gおよびトウモロコシデンプン100gをブレンダーで混合して散剤を得た。

製剤例 2

- TMG 100 g、乳糖 450 g および低置換度ヒドロキシプロピルセルロース 100 g を混合した後、10% ヒドロキシプロピルセルロース水溶液 350 g を加えて混練した。これを押出し造粒機を用いて造粒、
- 5 乾燥して顆粒剤を得た。

製剤例 3

TMG 100 g、乳糖 550 g、トウモロコシデンプン 215 g、結晶セルロース 130 g およびステアリン酸マグネシウム 5 g をブレンダーで混合した後、錠剤機で打錠して錠剤を得た。

10 製剤例 4

TMG 10 g、乳糖 110 g、トウモロコシデンプン 58 g およびステアリン酸マグネシウム 2 g を V 型混合機を用いて混合した後、3 号カプセルに 180 mg ずつ充填してカプセル剤を得た。

製剤例 5

- 15 TMG 200 mg およびグルコース 100 mg を精製水 2 ml に溶解した後濾過し、濾液を 2 ml アンプルに分注、封入した後滅菌して注射剤を得た。

## 産業上の利用可能性

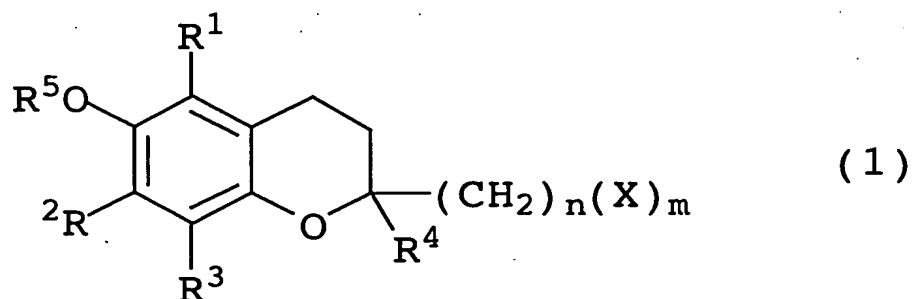
- 20 上述したように、本発明の動脈硬化症予防および治療剤は、水溶性のクロマノール配糖体を有効成分とするので、生体内の抗酸化防御系を補強し、動脈硬化症の患部における活性酸素およびフリーラジカルを効果的に抑制、調節して、動脈硬化症における病変を顕著に抑制し、病態を飛躍的に改善することができる。
- 25 また、本発明は、高い水溶性を有するクロマノール配糖体を有効成分とするので、固形製剤として用いるほか、有効成分を高濃度で含有する



水性製剤とすることができ、少用量で患部に効果的に作用し、動脈硬化症を予防、治療することができるとともに、副作用を伴わないので極めて安全に使用することができる。

## 請求の範囲

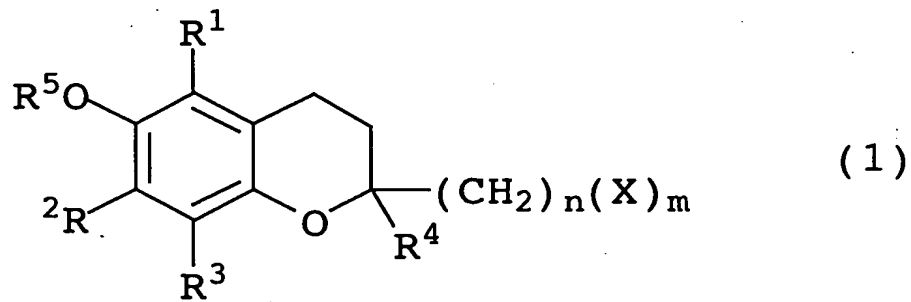
## 1. 下記一般式(1)



- 5 (ただし、式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  は同一または異なる水素原子または低級アルキル基を表し、 $R^5$  は水素原子、低級アルキル基または低級アシル基を表し、 $X$  は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル基または低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基またはオリゴ糖残基を表し、 $n$  は 0 ～ 6 の整数であり、および  $m$  は 1 ～ 6 の整数である)
- 10 る) で表されるクロマノール配糖体を有効成分とする動脈硬化症予防および治療剤。
2. 前記クロマノール配糖体は 2 - ( $\alpha$ -D-グルコピラノシル) メチルー 2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オールである請求項 1 記載の動脈硬化症予防および治療剤。
- 15 3. 前記動脈硬化症はアテローム性動脈硬化症である請求項 1 または 2 記載の動脈硬化症予防および治療剤。
4. 水性製剤である請求項 1 ～ 3 記載の動脈硬化症予防および治療剤。

## 要 約 書

下記一般式 (1)



- 5 (ただし、式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  は同一または異なる水素原子または低級アルキル基を表し、 $R^5$  は水素原子、低級アルキル基または低級アシル基を表し、 $X$  は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル基または低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基またはオリゴ糖残基を表し、 $n$  は 0 ～ 6 の整数であり、および  $m$  は 1 ～ 6 の整数である)
- 10 る) で表されるクロマノール配糖体を有効成分とする動脈硬化症予防および治療剤である。安全かつ少用量で患部に効果的に作用し、動脈硬化症を予防、治療することができる。